

家兎の脳皮質各領野での焦点発作波に対する Diphenylhydantoin の血中濃度からみた 抑制効果比較

— てんかん原性と発作波抑制効果との関連 —

金沢大学医学部神経精神医学教室 (主任: 山口成良教授)

窪 田 孝

(昭和57年10月26日受付)

体重 2.5—3.5 kg の雄の成熟家兎 32 匹を用い、脳皮質各領野でのてんかん原性の強さと、diphenylhydantoin (DPH) の抗けいれん効果との相関を検討した。外科的手術はエーテル麻酔下で行い、実験中は家兎を非動化し、人工呼吸下で急性実験を行った。一側の視覚領、側頭領、頭頂領、運動領の皮質表面で焦点発作波を連続電気刺激で誘発して、各々の発作波の持続時間と発作波パターンの変化を DPH 投与前後で比較した。DPH の血中濃度は発作波の終了後採血し、ガスクロマトグラフィー法で測定した。実験は DPH 血中濃度の値が必要に応じて一定に保たれるように、pharmacokinetics の理論に基づいて、異なった血中濃度の下で、1 匹の家兎につき 2 ないし 3 回行った。その結果これらの焦点発作波の持続時間の短縮は、視覚領でもっとも顕著で、次いで側頭領、頭頂領、運動領の順位であった。一方、別に 2 つの付加実験が行われた。1 つの実験では、各領野でのてんかん原性の差異に関して、発作波誘発閾値、発作波持続時間、発作波パターンにつき、上記の領野で誘発された発作波について比較検討し、発作波誘発閾値が低く、発作波持続時間が長く、かつより強直性の発作波パターンを示すという特徴は、視覚領でもっとも顕著で、次いで側頭領、頭頂領、運動領の順位であった。もう一つの実験では、運動領でもより発作波持続時間が長く、より強直性の発作波パターンを示す焦点発作波を得るために、短い時間間隔で発作波誘発刺激がくりかえされた (acute kindling)。この結果運動領で発展した焦点発作波は、DPH 投与下では視覚領と同じ程度に、発作波持続時間が顕著に短縮した。これらの結果は、DPH の抗けいれん作用が、それぞれの新皮質領野間で異なり、さらに、より強いてんかん原性をもった領野でその効果がより強く現われることを示唆している。

Diphenylhydantoin (以下 DPH) は現在、抗てんかん薬として臨床上最も多く使用されている薬物である。DPH に関してこれまで多くの実験的研究がなされてきており、その抗けいれん作用の基礎となる作用機序が次第に明らかとなってきた。これまで DPH の抗けいれん効果、特に焦点発作波に対する効果をみた実験的研究では、田代ら¹⁾が展望しているように、1) 発作波誘発閾値の軽度上昇^{2)~8)}、2) 発作波持続時間の短縮^{9)~11)}、3) 間代性パターンへの変化^{9)~11)}、4) 原焦点から他の皮質部位への発作波の伝播の抑制^{2) 4) 7) 11)}、など

が報告されている。しかし一方でこれらを否定したり^{12) 13)}、DPH が抑制性のみでなく、興奮性にも作用するという二相性効果についての報告もみられる^{4) 14) 15)}。また DPH が小脳のプルキンエ細胞の発火を増強することによって脳皮質の発作活動を抑制するという extra-focal inhibitory system に対する DPH の作用についても報告されるなど^{16)~19)}、DPH の発作波に対する影響はかなり複雑と考えられている。

ところで同一の方法で誘発された焦点発作波であっても、各脳部位によりその生理学的あるいは生化学的

Anticonvulsant Effect of Diphenylhydantoin Serum Levels on Focal Seizure Discharges in Different Neocortical Areas in Rabbits: Correlation Between Anticonvulsant Effect and Epileptogenicity. **Takashi Kubota**, Department of Neuropsychiatry (Director: Prof. N. Yamaguchi), School of Medicine, Kanazawa University.

な性質が異なるために DPH の発作波に対する作用にも当然各脳部位により差があることが考えられる。これまで DPH の各脳部位での発作波に対する影響の違いをみた研究では、大脳皮質と視床、アンモン角、扁桃核など皮質下の部位との間で、それらの発作波誘発閾値や、発作波持続時間に対して、DPH のおよぼす影響に差がみられることが、Schallek ら⁶⁾や、Racine ら²⁰⁾、および岸⁴⁾によって報告されている。しかし大脳皮質の各部位の間で差があるかどうかを研究した報告はみられない。そこで今回、家兎の急性実験で焦点発作波に対する DPH の影響について大脳皮質の各領域すなわち視覚領、側頭領、頭頂領、運動領の各領域で誘発された発作波の間で差があるかどうかを比較検討した。

近年、種々の抗てんかん薬について、血中濃度を指標としてその実験的てんかん発作に対する効果をみた研究が報告されるようになった¹⁵⁾²¹⁾²²⁾。その際任意の一定した DPH 血中濃度の値が長時間にわたって得られるならば、DPH 血中濃度は DPH 脳内濃度と平行関係にあるから血中濃度が脳内濃度の指標となり、一定の DPH 脳内濃度下に種々の実験操作を行えるため、DPH を 1 回あるいは数回にわけて投与する従来の方法にくらべ、実験方法上非常に有利であることはいうまでもない。そこでわれわれはこの DPH の定常状態 (steady state (血中への DPH の取り込みと血中からの消失速度が同一となり、血中濃度が一定となった状態)) を得ることを目的として、pharmacokinetics の理論を応用し、しかも 2 ないし 3 段階にわたって DPH 血中濃度を上げて実験を行った。このような投与方法で DPH の発作波に対する効果をみた研究は過去にはみられず、ここに報告する次第である。

対象および方法

対象として体重 2.5—3.5 kg の雄の家兎 14 匹を使用した。手術はエーテル麻酔ならびに 1% の塩酸リドカインの局所麻酔を併用して行った。まず気管切開し気管カニューレを挿入したのち、塩酸ツボクラリンの静脈内注射により動物を非動化し、気管カニューレにエーテル気化器を接続して、人口呼吸下に実験を行った。ただし、手術終了後はエーテルを止め、1 時間後エーテルの影響がなくなったと思われる時点より実験を開始した。また大脳の呼吸性動揺を避ける目的で、大槽より髄液を排出した。まず家兎を固定装置にとりつけ、開頭手術を行い、硬膜を切開して右側大脳半球の脳表面を広く露出した。

刺激電極として極間 1 mm で、先端のみ露出した先端直径 0.3 mm のスチール製双極針を用い、Rose らの map²³⁾に準じて、右側の視覚領 (area striata)、側頭

領 (regio temporalis)、頭頂領 (regio parietalis)、運動領 (regio praecentralis agranularis) の皮質表面に置き、発作波はこの 4 領域で連続電気刺激によって誘発した。

記録電極としては直径 0.5 mm の銀球電極を、それぞれ 4 領域の刺激針に近接して置き (1 mm 以内)、全部で 4 誘導記録とした。なお側頭領としては Rose らの map²³⁾により上部に位置する第 1 側頭領 (area temporalis prima) に刺激電極と記録電極をおいた。

刺激装置として日本光電製電子管刺激装置を用い、矩形波パルスの持続、周波数、刺激時間を一定の条件とし、電流値のみを適宜増減することによって刺激強度を変えた。銀球電極からの脳波導出は、日本光電製 13 チャンネル脳波計を用いて記録した。

実験の順序は以下のごとくである。まず DPH 投与前に対照としての発作波を、視覚領、つづいて側頭領、頭頂領、運動領の順に 3 分間の間隔をおいて、すべての領域で同一強度の連続電気刺激によって誘発した。その後すぐに DPH を投与し、その 30 分後に再び 4 つの領域にそれぞれ同じ順序で同一強度の連続刺激を行って、発作波の持続時間および発作波パターンの変化をみた。4 領域での発作波がすべて終了した直後に、あらかじめ露出しておいた一側の頸静脈より血液を採取した。発作波の誘発に用いた連続刺激の強度は、3—5 mA、0.2 msec の矩形波パルス、周波数 50 Hz、刺激時間 3 秒とし、電流値のみを変えた。なお DPH の血中濃度を定常状態にするために DPH の投与に際して、pharmacokinetics の理論を応用して、初期静脈注入 (loading dose) と微量注入装置による連続注入 (infusion dose) を併用した。初期静脈注入と連続注入は、それぞれ左右の耳静脈より行い、連続注入には夏目製作所製 KN 式微量注入器を使用した。そして一定の血中濃度を 30 分間隔で 2 ないし 3 段階まで上げて得られるように工夫し、各段階で継続的に連続刺激と血液の採取をくりかえした。

手術の開始から実験の終了までの所要時間は約 4 時間から 4 時間半で、脳波記録の開始から終了までの所要時間は約 2 時間である。連続刺激は同一家兎で 3 ないし 4 回行った。また記録中の動物の痛みを除去するため、記録開始時とその 1 時間後の 2 回、固定装置のイアーボールによる圧迫箇所と、手術の際の切開部位に塩酸リドカインによる局部麻酔を行った。

別に予備実験として次の 3 つの実験を行った。

1) DPH の血中濃度が 20 $\mu\text{g/ml}$ での定常状態を得ることを目標として、pharmacokinetics の理論に従って DPH を投与した場合、実際のどの程度正確に目標とする値が得られるかどうかを調べた。定常状態を得た

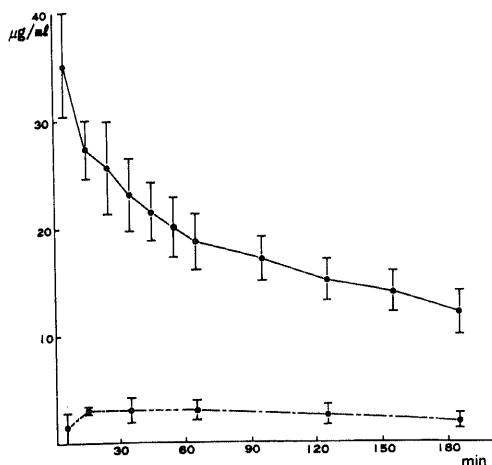


Fig. 1. Concentrations of DPH in serum and cerebrospinal fluid (CSF) during the time course of 185 minutes after an intravenous injection of DPH. ●—●, DPH serum level; ●---●, DPH CSF level. Note that serum level decreases gradually, and further, CSF level decreases slower than serum level. Each dot represents mean level of DPH with the standard deviation (vertical bar) in 5 rabbits.

めには、初期静脈注入と、微量注入装置による連続注入の併用が必要だが、それらの注入量と注入速度を求めるために、DPH 20 mg/kg を 1 回のみ静脈内投与した場合の DPH 血中濃度の経時的変化を、5 匹の家兎について調べた。図 1 はその結果で、DPH 静注後の血中および髄液内濃度の時間曲線である。血中濃度は DPH 静注後 5 分以内で最大値になるが、以後経時的に下降し、また髄液内濃度も 15 分から 35 分で最大値となり、最大値に至る時間が血中濃度にくらべ 10 分から 30 分のおくれがみられる。しかしいずれも経時的に下降しており、DPH 1 回のみ静注では定常状態は得られない。そこでこれらの値より one compartment model による解析で、消失速度定数 (rate of elimination) 0.00491 min^{-1} と、分布容量 (distribution volume) 690 ml/kg を求め、これより DPH $20 \mu\text{g/ml}$ での定常状態に必要な初期静脈注入量 13.8 mg/kg と、連続注入量 4.1 mg/h/kg が得られた²⁴⁾。図 2 は前記の数値の初期静脈注入と、連続注入を併用した場合の理論上のモデルである。片対数グラフで表わしてあり、縦軸は対数で血中濃度を示し、横軸は時間である。×—× は初期静脈注入、●—● は連続注入の場合の経時的な DPH の血中濃度を示してある (連続注入単独では注入開始後 10.4 分で $1 \mu\text{g/ml}$ の血中濃度が得られる。)。両者を同時に行った場合、両者の和により、○—○ で示すように $20 \mu\text{g/ml}$ での定常状態が理論上得られるわけ

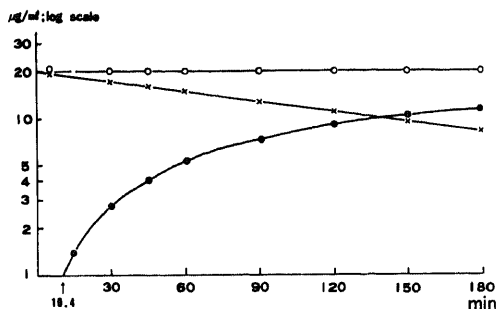


Fig. 2. Theoretical model of steady serum level of $20 \mu\text{g/ml}$ based on the pharmacokinetics. ●—●, infusion dose, 4.1 mg/h/kg ; ×—×, loading dose, 13.8 mg/kg ; ○—○, steady serum level of $20 \mu\text{g/ml}$ produced by the total of infusion dose and loading dose.

ある。

そこでこの理論に従って体重 $2.5\text{--}3.5 \text{ kg}$ の雄の家兎 5 匹を使用し、前述と同様の麻酔方法で人工呼吸下に実験を行った。一側の耳静脈より DPH の連続注入を開始し、同時に対側の耳静脈より初期静脈注入を行い、その後は一定時間毎に一側の頸静脈より約 1.5 ml の血液を採取した。また髄液はあらかじめ大槽 (cysterna magna) の硬膜を露出しておき、この部位より一定時間毎に 0.2 ml ずつ採取した。血液の採取時間は 5, 15, 25, 35, 45, 55, 65, 80, 95, 125 分の計 10 回で、髄液は 5, 15, 35, 65, 95, 125 の計 6 回であった。

2) 5 匹の家兎を用いて、視覚領、側頭領、頭頂領、運動領の 4 つの領野で、連続電気刺激による発作波誘発閾値を測定した。発作波誘発閾値の決定は、パルス幅、周波数、刺激時間は一定とし、電流値のみを変化させてそれぞれの領野を刺激することにより決定した。

3) 5 匹の家兎を用いて DPH を投与せずに、同一強度の連続刺激を本実験と同じく 4 つの領野で 30 分間隔でくりかえし、それぞれの領野での発作波の持続時間の変化をみた。連続刺激は 30 分間隔で 4 回行った。

さらにこれらの予備実験とは別に、次の付加実験を行った。

3 匹の家兎につき、まず視覚領で連続刺激により発作波を誘発して対照とし、次に同一強度の連続刺激を運動領で行った場合、後述するようにこの領野では 1 回の刺激では視覚領にくらべ短かい持続の発作波しか得られないために、視覚領の対照発作波とほぼ同じ程度の持続時間の発作波が得られるまで、急性キンドリング (acute kindling) の方法により²⁵⁾、計 8—10 回、3 分間隔で同一強度の連続刺激をこの運動領でくりかえし、対照発作波とした。次に DPH を投与し、対照発作波の持続時間の短縮の度合いを視覚領と運動領で比

較した。視覚領, 運動領とも刺激強度は3—5 mA, 0.2 msecの矩形波パルス, 周波数50 Hz, 刺激時間3秒とした。これらの予備実験, 付加実験の手術方法, 記録方法ともに前述の本実験のものと同様である。

以上の実験では, 動物の生理的条件の変化をみるために, 動物の瞳孔反射と直腸温の測定を頻回に行い, また心電図の記録を行ったが, すべての家兎で実験中にそれらに大きな変化はみられなかった。また脳波も記録開始後2時間以内では, 3—5 Hzの活動が主にみられ, 時折り紡錘波が出現するという背景活動に大きな変化はみられなかった。

なおDPHの血中濃度ならびに髄液内濃度の測定には, 血中抗てんかん薬測定キット markit®を使用し, 一部ガスクロマトグラフィー法で測定した。

成 績

1, 2の節が予備実験に関する, 3, 4, 5の節が本実験に関する, 6の節が付加実験に関する成績である。

1. DPH 定常状態での血中濃度および髄液内濃度の経時的变化

図3は20 $\mu\text{g/ml}$ での定常状態を得ることを目標として5匹の家兎にDPHを投与した時の血中および髄液内DPH濃度の経時的变化を示したもので, 各時間毎のおのこの濃度の平均値と標準偏差を示してある。図の

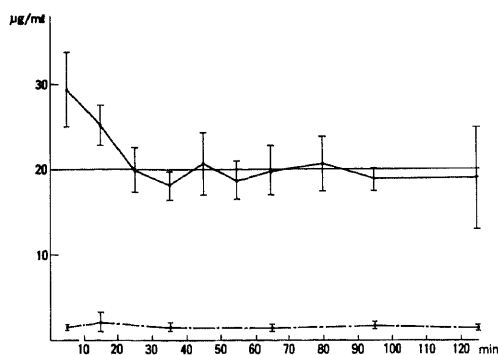


Fig. 3. Concentrations of DPH in serum and CSF during the time course of 125 minutes with infusion dose and loading dose applied for the purpose of maintaining the steady serum level of 20 $\mu\text{g/ml}$. ●—●, DPH serum level; ●---●, DPH CSF level. Note that the serum level of DPH is maintained in about 20 $\mu\text{g/ml}$ from 25 minutes after the application of DPH. On the other hand, CSF level is maintained in about 1.5 $\mu\text{g/ml}$ from 35 minutes. Each dot represents mean level of DPH with the standard deviation (vertical bar) in 5 rabbits.

ごとく血中濃度はDPH静注後25分までは20 $\mu\text{g/ml}$ より高値であるが, それ以後はほぼ20 $\mu\text{g/ml}$ の値を示している。また髄液内濃度も35分以後は1.5 $\mu\text{g/ml}$ 前後である。このように図1と比較して明らかに定常状態であるといえる。DPH投与後25分までの急激な血中濃度の低下は, 静注により投与された薬物が体内にほぼ均一に分布するまでの期間で, pharmacokineticsでは α 相とよばれ, 25分以後は体内からの排泄と連続注入による体内へのとりこみのバランスがとれた状態で β 相とよばれ, すなわち定常状態に達する。

2. 大脳皮質各領野での発作波誘発閾値の差異

図4は5匹の家兎で視覚領, 側頭領, 頭頂領, 運動領の4つの領野での連続電気刺激による発作波誘発閾値を測定したものである。発作波誘発閾値は運動領と頭頂領で最も高く, 両者の間で有意の差はみられない。続いて側頭領, 視覚領の順に低い閾値を示し, それぞれの領野の間では, t検定によると危険率5%で有意の差がみられた。このように家兎の大脳皮質の各領野では, 連続刺激による発作波誘発閾値が異なることが明らかとなった。

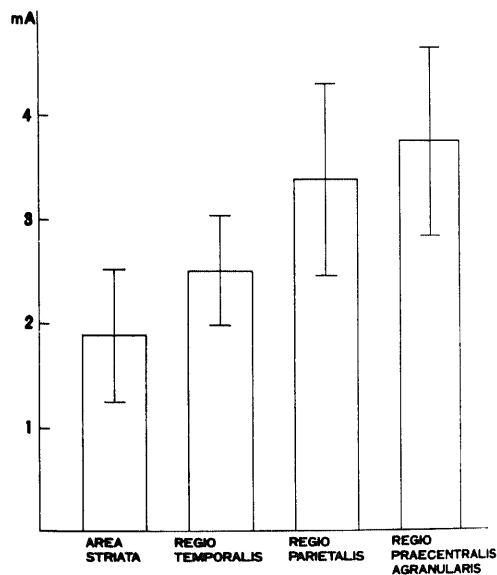


Fig. 4. Regional differences of seizure discharge (SD) threshold in the cerebral cortex of rabbits. Electric current (mA) alone of stimulus strength was changed, though other parameters (0.2 msec pulse duration, 50 Hz and 3 sec in total duration) were constant. The SD threshold was lower in the order of those induced in the visual, temporal and parietal and motor cortices. Each rod represents mean SD threshold with the standard deviation (vertical bar) in the above-mentioned regions.

3. 反復連続電気刺激による大脳皮質各領野での発作波の持続時間の変化の比較

図5は5匹の家兎でDPHを投与しない状態で連続刺激を30分間隔で4回くりかえした時のそれぞれの回での発作波の持続時間の平均値を示してある。縦軸は対照を100とした場合の発作波の持続時間比である。刺激回数を重ねるにつれて、4つの領野とも発作波持続時間が延長するが、視覚領、側頭領の順に強い延長がみられ、4回目の刺激では両者の間には5%の危険率で有意の差がみられ、続く頭頂領と側頭領の間にも5%の危険率で有意の差がみられた。しかし頭頂領と運動領の間には有意差はなく、またこれらの部位では軽度の持続時間の延長しかみられなかった。このように連続刺激のくりかえしによる発作波持続時間延長効果についても各領野の間で差がみられた。

なお同じ刺激強度の連続刺激を各領野で行った場合、視覚領でもっとも顕著に、次いで側頭領、頭頂領、運動領の順に、発作波持続時間の長い、より強直性の発

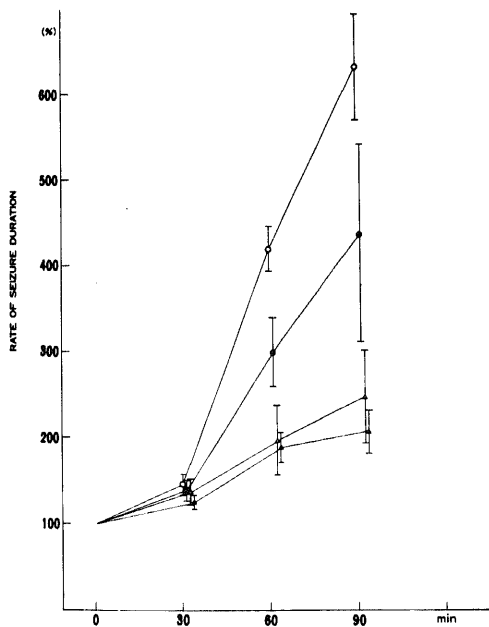


Fig. 5. Prolongation of SD produced by the repeated seizure - producible stimulation. Each area was stimulated by 4 repetition of the stimulation of a constant intensity at 30 - minute intervals. The rate of seizure duration (ordinate) was expressed as percent of the first SD duration. Each dot represents a mean rate of seizure durations with the standard deviation (vertical bar) in 5 rabbits. The prolongation rate of SD was higher in the order of those induced in the visual, temporal and parietal and motor cortices.

作波パターンが得られた (図7, DPH 投与前)。

4. 大脳皮質各領野での発作波に対する DPH の効果比較

図6は14匹の家兎で、DPH 血中濃度を定常状態で2ないし3段階まで30分間隔で上げて得られた値、32個を5 $\mu\text{g/ml}$ の幅で区切り、それぞれの区間の濃度範囲で得られた発作波の持続時間を示した。縦軸は対照となる発作波の持続時間を100とした場合の各発作波の持続時間を示した。5-10 $\mu\text{g/ml}$ では視覚領発作波と側頭領発作波で、対照発作波にくらべて発作波持続時間の短縮がみられる。一方頭頂領発作波と運動領発作波はかえって延長し、運動領発作波ではさらに血中濃度が上がり、10-15 $\mu\text{g/ml}$ となっても発作波持続時間の延長がみられた。この5-10 $\mu\text{g/ml}$ 、さらに10-15 $\mu\text{g/ml}$ の濃度範囲では4つの領野でのDPHの発作波持続時間に対する抑制効果には、視覚領、側頭領、頭頂領、運動領の間で5%の危険率で有意の差がみられた。さらにDPH 血中濃度が上がり、15 $\mu\text{g/ml}$ 以上になると、運動領、頭頂領でも明らかな発作波持続時間の短縮がみられるようになり、また20 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度では視覚領、側頭領では一部発作波が完全に消失

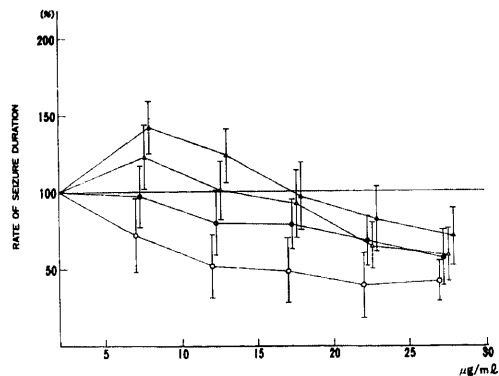


Fig. 6. Correlation between SD duration and serum levels of DPH in different cortical areas. Thirty - two serum level values obtained from the present experiments were divided into 5 sections (5 $\mu\text{g/ml}$ interval). In each section, SD durations induced under the individual serum level were plotted as percent of the first SD durations. Each dot represents a mean rate of seizure durations with the standard deviation (vertical bar) in 5 - 7 experiments. \circ — \circ , visual cortex; \bullet — \bullet , temporal cortex; \triangle — \triangle , parietal cortex; \blacktriangle — \blacktriangle , motor cortex. Note that SD durations were more shortened in the order of those induced in the visual, temporal, parietal and motor cortices in both sections of 5 - 10 $\mu\text{g/ml}$ and 10 - 15 $\mu\text{g/ml}$.

する場合もあった。ただし、 $15 \mu\text{g/ml}$ 以上では視覚領と他の3領野の間ではDPH効果に明らかな差がみられるものの、側頭領、頭頂領、運動領の3領野間ではDPH効果にはっきりとした差が現われにくくなっている。

図7は大腦皮質各領野で、実際にDPHを投与する前後での発作波パターンの変化を示してある。1が視覚領、2が側頭領、3が頭頂領、4が運動領のそれぞれの領野での発作波である。左側がDPH投与前の対照発作波を示し、右側がDPH $11.9 \mu\text{g/ml}$ の時点での発作波を示している。各領野とも刺激強度は3mA、0.2msecの矩形波パルス、周波数50Hz、刺激時間3秒の同一強度の連続刺激が行われている。対照発作波の持続時間の一番長いのは視覚領、次いで側頭領、頭頂領、運動領の順で、その実測値はそれぞれ22.3秒、17.0秒、7.3秒、4.7秒であった。しかも同様の順序でより強直性の発作波パターンを示している。DPH投与後は同じく視覚領が一番強く、次いで側頭領、頭頂領の順で発作波持続時間が短縮され、発作波の持続時間の実測値はそれぞれ14.0秒(8.3秒短縮)、12.7秒(4.3秒短縮)、5.7秒(1.6秒短縮)であった。しかし運動領では7.3秒へとかえって発作波持続時間が2.6秒延長した。このようにDPHの発作波抑制効果は視覚領で一番強く、

次いで側頭領、頭頂領、運動領の順であった。

5. DPH抑制効果と対照発作波の持続時間との相関

4で示した本実験のデータより、視覚領発作波と運動領発作波につき、DPHの血中濃度が $10-20 \mu\text{g/ml}$ の時点での発作波持続時間の短縮率と、それぞれの発作波の対照発作波の持続時間との相関をみた。視覚領と運動領でそれぞれ14個の発作波につき検討した。図8はその結果である。 $10-20 \mu\text{g/ml}$ の濃度範囲では視覚領発作波は、対照発作波の持続時間が長いものほど、段階的に強く発作波持続時間の短縮がみられた。運動領発作波は対照発作波が10秒以下では $10-20 \mu\text{g/ml}$ の濃度範囲で、発作波の延長がみられるが、対照発作波の持続時間が10-20秒では発作波の短縮がみられ、2つの値の平均値の差の検定では1%の危険率で有意の差がみられた。

6. 急性キンドリングの実験

図9は付加実験として行った、3匹の家兎のうち1匹についてその実験結果を示したものである。すなわち視覚領で連続刺激により発作波を誘発し、運動領では視覚領とほぼ同じ程度の長さの発作波が得られるまで、急性キンドリングの方法で²⁵⁾、計8回、3分間隔で

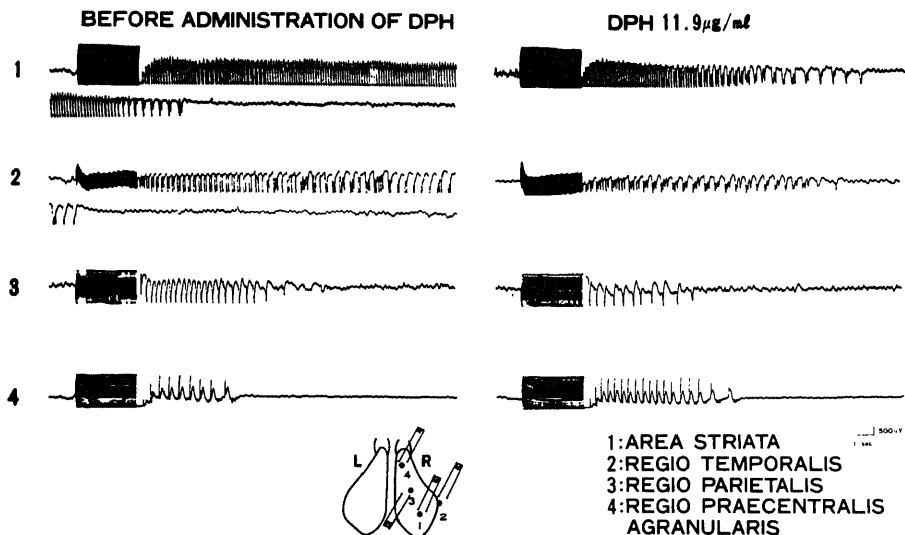


Fig. 7. Comparison of SDs in different cortical areas induced before and after administration of DPH. 1, 2, 3, 4 indicate the visual, temporal, parietal and motor cortices respectively. Left side: the control SDs induced before administration of DPH. Right side: SDs induced under $11.9 \mu\text{g/ml}$ serum level of DPH. Before administration of DPH, in the order of the visual, temporal, parietal and motor cortices, SDs in these areas had longer seizure duration and more tonic phases. After administration of DPH, these SDs were more shortened in the order of those induced in the visual, temporal and parietal cortices, and further, the SDs in the motor cortex were prolonged.

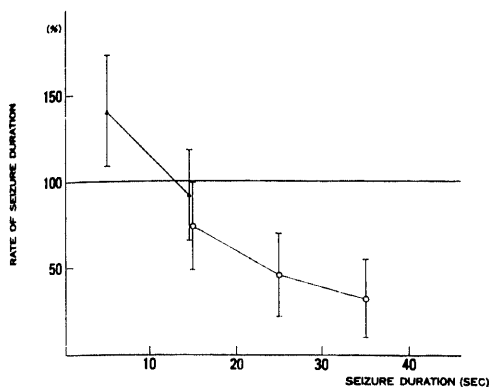


Fig. 8. Correlation between the anticonvulsant effect of DPH and the control SD duration as an index of epileptogenicity. This correlate was indicated in each of visual and motor cortices. In a vertical shaft, the each duration value of 14 SDs induced under 10–20 $\mu\text{g/ml}$ serum level of DPH were compared with each control SD durations. The rate of seizure duration (ordinate) was expressed as percent of the corresponding control SD duration. In a horizontal shaft, duration values of the 14 control SDs were divided into 2 or 3 sections (2 sections in motor cortex, 3 sections in visual cortex respectively). Each dot represents a mean rate of seizure durations with the standard deviation (vertical bar) in 4–7 experiments. \circ — \circ , visual cortex; \blacktriangle — \blacktriangle , motor cortex. Note that SDs were more shortened by DPH when the durations of control SDs were longer.

連続刺激をくりかえし、それぞれ対照発作波とした後、DPH を投与し対照発作波と DPH 血中濃度 14.3 $\mu\text{g/ml}$ の時点で誘発された発作波を比較したものである。上段は視覚領、下段は運動領で、左側は DPH 投与前の対照発作波、右側は DPH 血中濃度 14.3 $\mu\text{g/ml}$ の時点でのそれぞれの発作波である。いずれも刺激強度は 3 mA, 0.2 msec の矩形パルス、周波数 50 Hz、刺激時間 3 秒である。視覚領では対照の 23.0 秒の発作波が、DPH 14.3 $\mu\text{g/ml}$ 投与下では 11.3 秒に短縮した。一方運動領では DPH 投与前の 1 回目の刺激で 7.0 秒、8 回目の刺激で 18.3 秒と発作波持続時間が延長しているが、この時点で DPH を投与し、14.3 $\mu\text{g/ml}$ の濃度で、発作波持続が 10.0 秒となり、視覚領とほぼ同じ程度に明瞭な発作波持続時間の短縮がみられた。

このように対照発作波が長いほど、DPH 投与により、より強い発作波持続時間の短縮がみられた。

考 察

実験てんかんの研究で、抗てんかん薬の実験的てんかん発作におよぼす効果をみる場合、抗てんかん薬の血中濃度を指標とする方法は、近年血中濃度測定法の進歩にともなって漸次報告されるようになった¹⁵⁾²¹⁾²²⁾。

今回の研究では抗てんかん薬として DPH を用いたが、新しい試みとしてその投与方法に、pharmacokinetics の理論を応用した。さらにこれまで報告のみられない大脳新皮質各領野での DPH 効果の差について検討したので、主としてこれらの点につき考察する。

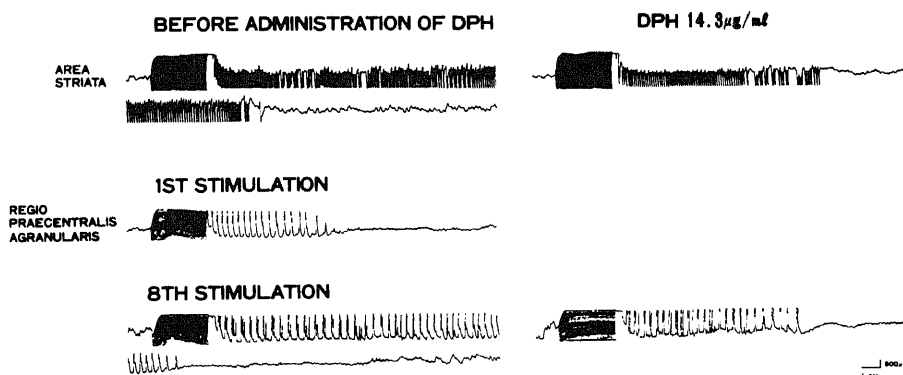


Fig. 9. Comparison of SDs in the visual and motor cortices induced before and after administration of DPH. Motor cortex was stimulated by 8 repetition of the stimulation of a constant intensity at 3-minute intervals for the purpose of producing the SD with a longer duration and more tonic phases in same degree as that of the visual cortex. Note that the developed SD of the motor cortex was shortened in the same degree as that of the visual cortex under 14.3 $\mu\text{g/ml}$ serum level of DPH.

I. Pharmacokinetics に基づいた定常状態での DPH 投与の意義について

Pharmacokinetics の理論を応用して、頻回の静脈内注射により急速に高い血中濃度を得ることによって、早く発作を抑制しようとする急速飽和法が、最近実際の臨床でも時々行われているが、²⁶⁾²⁷⁾、今回の研究では急性実験で、初期静脈注入と微量注入装置による連続注入を併用して、DPH の血中への取り込み速度と血中からの消失速度が同一となり、血中濃度が一定となった状態、すなわち定常状態が急速に得られることを目標とした。ここでこのようにして得られる定常状態が、従来の血中濃度を指標とした実験で行われてきたような、DPH を 1 回あるいは数回にわけて時間をおいて投与する方法と比較した場合の有利な点について考察する。

まず pharmacokinetics に基づいた定常状態においては、1 回あるいは数回にわけて投与する方法にくらべて必要に応じて任意の値の血中濃度が、長時間にわたって得られ、その間、同一血中濃度下に大脳皮質各領野の刺激および採血といった種々の複雑な実験操作が可能であることがあげられる。さてここで問題となるのは、DPH 血中濃度の定常状態が直接発作波の抑制に関与している DPH 脳内濃度を反映しているかどうか、すなわち血中濃度が脳内濃度の指標となるかどうかということである。Kutt ら²⁸⁾、Louis ら²⁹⁾によれば、ネコを用いた実験で DPH を静脈内投与した場合、注射する速度にかかわらず DPH 脳内濃度は 30 秒から 15 分の間で一定のレベルに達し、かつペニシリンによって誘発された間欠性けいれん発作が、DPH 投与後 10 分以内に消失したと報告している。また Ramsay ら³⁰⁾は、イヌとネコを用いた実験で DPH は静脈内投与後 6 分で最大脳内濃度となると報告している。このように DPH は静脈内投与された場合、わずか数分以内で最大脳内濃度となり、かつそれにともなって臨床的な発作も急速に抑制されている。さらに Woodbury は³¹⁾ヒトで放射性同位元素でラベルした DPH を静脈内投与した場合、DPH 脳内濃度は 15 分以内で最大値となると報告し、さらに脳内濃度は血中濃度の減少につれてただちに減少をはじめ、両者は平行して減少していくことを報告している。すなわち血中濃度と脳内濃度の間には、投与後ごく早期より平衡が成立し、その後はパラレルな関係に移行することがわかる。これらのデータから DPH 血中濃度と脳内濃度は平行関係にあることがわかり、おそらく DPH 血中濃度の定常状態が得られるならば、DPH 脳内濃度も血中濃度とパラレルな定常状態になると思われ、血中濃度は脳内濃度の指標となり得ると考えられる。

一方、予備実験では、血中濃度と同様に髄液内濃度の測定も行っているが、5 匹の家兎に DPH を 1 回静脈内投与後、血中濃度と髄液内濃度を経時的に測定した結果では、血中濃度が DPH 静脈内投与後急速に減少するのに対し、髄液内濃度は比較的小さく、15 分から 35 分で最大値となり、その後ゆっくり減少している。これは DPH の髄液内へのとりこみは、脳内へのとりこみよりおくれるため、Woodbury の報告と一致する³¹⁾。また別の予備実験で DPH 血中濃度 20 $\mu\text{g/ml}$ での定常状態を目標とした場合、血中濃度は投与開始後 25 分以後はほぼ定常状態となり、しかも髄液内濃度も 35 分以後は 1.5 $\mu\text{g/ml}$ で血中濃度とほぼ一定の比率で定常状態となっている。さて実際脳内で薬理学的活性を有するのは、血清蛋白非結合型の DPH であり、この濃度が脳内 DPH 濃度を直接反映すると同時に、髄液内濃度と同値であることがわかっている^{32)~34)}。したがって、もし血中濃度の定常状態が得られるならば、同じく一定時間後、血中濃度と一定の比率で定常状態となる髄液内濃度より、直接の脳内濃度の推定が可能となり、この点も実験方法上の利点と考えられる。

なおこの定常状態下での DPH 血中濃度と髄液内濃度との比率については、ヒトのてんかん患者の研究での DPH の血清内濃度に対する髄液内および血清蛋白非結合型濃度の比率とほぼ同等であり^{32)~34)}、ヒトと家兎との類似点として興味深い。

以上のことを考慮した上でわれわれは、DPH 投与後 30 分以上を経過し、血中濃度が定常状態となり、しかも脳内濃度および髄液内濃度も定常状態となったと思われる時点で連続電気刺激および採血を行った。このように抗てんかん薬の実験的てんかん発作に対する効果をみる場合、血中濃度の定常状態が一定時間得られるならば、血中濃度より脳内濃度の推定が可能となる点、さらに任意の同一血中濃度による一定の脳内濃度下に種々の実験的操作が行える点で、DPH を 1 回あるいは数回にわけて投与する従来の方法にくらべ、実験方法上非常に有利であるといえる。

II. 大脳皮質各領野でのてんかん原性の差異について

予備実験として大脳皮質各領野での発作波誘発閾値の差異と、連続刺激のくりかえしによる発作波持続時間の変化をみたが、この 2 つの実験結果をまとめると次の如くである。発作波誘発閾値は運動領と頭頂領で最も高く、次いで側頭領、視覚領の順に低くなっている。また同一強度の連続刺激を各領野で行った場合、第一に視覚領、次いで側頭領、頭頂領、運動領の順位で、より発作波持続時間の長い、より強直性の発作波パターンが得られた。さらに同一強度の連続刺激をく

りかえた場合、視覚領、側頭領の順位で発作波持続時間の顕著な延長がみられ、頭頂領、運動領では持続時間の軽度の延長しかみられなかった。これらの結果をまとめると、(1)発作波誘発閾値が低い、(2)発作波持続時間が長い、(3)強直性発作波パターンが強い、(4)くりかえし刺激による延長効果が強い、といった傾向がより強い領野、すなわちてんかん原性の強い領野は家兎では、第一に視覚領、次いで側頭領、頭頂領、運動領の順位であることがわかる。過去に大脳皮質でのてんかん原性のちがいをみた研究では、French ら³⁵⁾はサルで運動領および前運動領皮質、後帯状回、上側頭回そして頭頂領が発作波誘発閾値の低い皮質領野であり、他の領野では発作波が誘発されにくいと報告し、Delgado ら²⁾も同じくサルで運動領では発作波誘発閾値が低く、前頭葉極、後頭葉極では高いと報告している。また Racine³⁶⁾はラットを用いたキンドリングの実験で、初回刺激での発作波誘発閾値は、古皮質が新皮質より有意に低いと報告している。ヒトの器質てんかんでの臨床的研究では、Penfield ら³⁷⁾は発作発現率は前頭葉と後頭葉で低く、Rolando 溝周辺を中心回領野、半球内側、側頭葉では高く、頭頂葉がそれに次ぐと報告している。動物種のちがいにによりかなり差があるが、大脳皮質各領野のちがいににより、てんかん原性が異なることがわかる。

その理由につき考察するならば、家兎で最もてんかん原性の強い視覚領と最も弱い運動領を比較すると、組織構造上、運動領の細胞構築が神経細胞層および錐体細胞層を主体とするのに対し、視覚領は内顆粒層が発達しており、星状細胞などの介在神経細胞が豊富である。こういった細胞構築のちがいが、てんかん原性の差をひきおこしている1つの可能性としてまず考えられる。また他に、過去に Fahn ら³⁸⁾はサルで、Perry ら³⁹⁾は剖検による人脳を用いて、脳内での抑制性伝達物質である γ -aminobutylic acid (GABA) の分布を調べているが、大脳皮質各領野で GABA 濃度に差があることを報告している。実際脳内では GABA の他にも種々の抑制性、あるいは興奮性の神経伝達物質が存在し複雑であるが、サルではてんかん原性が高いといわれている運動領では、GABA 濃度が他の皮質領野より低い傾向がみられ、もし家兎でも各領野での GABA 濃度に差があるならば、代表的な抑制性伝達物質である GABA 濃度の差がてんかん原性の差となる可能性も充分考えられる。

III. てんかん原性の強さと DPH の発作波抑制効果との相関について

今回の主となる実験として、大脳皮質各領野での DPH 効果の差を調べたが、その実験結果について考察する。

DPH による発作波持続時間の短縮は、家兎では第一に視覚領、次いで側頭領、頭頂領、運動領の順位に顕著であった。この順序は前述の予備実験におけるてんかん原性の強い領野(てんかん発作波持続の長い領野)の順位に一致し、この両者の相関から大脳皮質の各領野では、てんかん原性のより強い領野ほど DPH 効果がより顕著に具現すると思われる。

ここで問題となるのは大脳皮質の各領野で DPH の脳内濃度が異なり、それが外見上の DPH 効果の差となっている可能性の有無である。過去に Firemark ら⁴⁰⁾はネコで DPH を静注後、経時的に DPH 脳内濃度を測定し、灰白質と白質では DPH 濃度に差がみられたが、これについて DPH は血管豊富な灰白質では迅速に浸透し、白質では髄鞘のバリアーにより集積が遅延するのであると推測しており、一方大脳皮質各領野間では DPH 濃度に有意の差はないと報告している。したがって今回の実験結果が脳内濃度の差によるものとは考えにくい。

さててんかん原性の強さと DPH 効果の相関は大脳皮質各領野間でみられるだけでなく、同一領野で誘発された発作波についてもみられた。すなわちてんかん原性の最も高い視覚領発作波と、最も低い運動領発作波について、血中濃度 10—20 $\mu\text{g/ml}$ の範囲で発作波持続時間の短縮率と、それぞれの発作波の DPH を投与する前の対照発作波の持続時間の相関をみた場合、視覚領、運動領ともに対照発作波の持続時間の長いほど、DPH による発作波持続時間の短縮率が大きかった。さらに同一家兎について視覚領と運動領を比較し、4 領野中最もてんかん原性の低い運動領で、急性キンドリング²⁸⁾の方法で、同一強度の連続刺激をくりかえすことにより発作波持続時間を長くし、視覚領の対照発作波と同程度の持続時間とした上で DPH の効果をみた付加実験では、運動領でも視覚領と同程度の発作波抑制効果がみられた。すなわち同一領野でも発作波持続時間が長い場合には、DPH の抑制効果はより強く現われることがわかる。言いかえれば、大脳皮質各領野間でみられる DPH 効果の差は各領野間での質的なちがいにによるものではなく、てんかん原性のうち特に発作波持続時間に関する量的な差であるということが推測される。

ところで頭頂領、運動領では DPH 血中濃度が低い場合、かえって発作波持続時間の延長がみられた。この現象は視覚領、側頭領についても DPH 血中濃度が低い場合にみられた。これに関してはこれまで DPH が興奮性と抑制性の両方に作用するという、DPH の二相性効果が論じられており、Toman¹²⁾は焦点発作波の持続時間が DPH によって延長することを報告し、また岸⁴⁾は家兎のアンモン角発作波の持続時間が DPH の大量投

与により、かえって延長すると報告している。ほかにも Oliver ら¹⁴⁾、Bustamante ら¹⁵⁾は、モルモットの海馬 slice を用いた実験や、ネコの大脳皮質における実験でペニシリンによって誘発されたスパイク発火の頻度が、低濃度の DPH で増加し、高濃度で減少することを報告している。しかし本実験にかぎっていえば、DPH 低濃度での発作波の延長は、予備実験でみられたように、くりかえし刺激による延長効果が DPH 濃度が低いいため、DPH の抑制効果より強く現われたものとも考えられる。しかし DPH の二相性効果については、上述のごとく従来から論議のあるところであり、今後も検討を要する興味深い問題であると思われる。

さてここで DPH がてんかん原性の強い場合、特に発作波持続時間の長い場合でより強い抑制効果を示す理由につき若干考察する。中枢神経系の代表的な抑制性伝達物質として GABA があげられるが、DPH の GABA に対する作用として、Vernadakis ら⁴¹⁾は大脳皮質において DPH は GABA 濃度を上昇させることにより、興奮性を減少させると報告している。また Raabe ら⁴²⁾によれば、DPH はネコの錐体路細胞で、抑制性シナプス後電位 (inhibitory post-synaptic potential: IPSP) の持続時間を延長させ、反回性抑制を増強させるのであろうと報告し、さらに Ayala ら⁴³⁾は無脊椎動物で DPH は GABA により IPSP を増強すると報告している。すなわち DPH は大脳皮質においても選択的に GABA に作用し、IPSP を増強することにより抑制効果を現わすと考えられる。また DPH が小脳のプルキンエ細胞の発火を増強することにより大脳皮質の発作活動を抑制する^{10)~16)}という extra-focal inhibitory system、あるいは大脳の皮質焦点のまわりを過分極帯がとりかこみ焦点発作活動を抑制する surrounding inhibition 現象⁴⁴⁾に対する DPH の増強作用についても GABA の関与が推定される。このように DPH の発作波の抑制には GABA が種々の立場から関与していると考えられる。てんかん原性と DPH 効果の相関については、現在のところその明確なメカニズムは解明されていないが、おそらくてんかん原性が強くて発作波持続時間が長い場合、すなわち焦点皮質の興奮性が強い場合ほど、これらの GABA 作動性の発作抑制機序に対する DPH の増強作用がより効果的に強く働くものと考えられる。

最後に今回の研究結果の臨床的意義について考えてみる。過去に Schmidt ら⁴⁵⁾は、てんかん病態の強さと治療有効濃度の関係を論じ、てんかん病態の強度、すなわち発作頻度を指標とするてんかん原性のつよさと、治療有効濃度との間には相関関係があると述べている。ヒトと家兎との動物種のちがいがから、本実験の結果を

ヒトのてんかんの臨床に推し広げて考えることは困難であるが、ヒトの大脳皮質においても発作発生の感受性の強弱や発作持続時間の長短、強直性あるいは間代性発作波パターンの様式などに関するてんかん原性の差が各領野間で存在するかもしれない。そうするとそうしたてんかん原性の差にもとづいて、大脳皮質の各領野起原の各焦点発作の間で、抗てんかん薬の治療有効濃度のちがいが生ずる可能性が本実験から示唆される。

結 論

体重 2.5—3.5 kg の雄の家兎計 32 匹を用い、急性実験でエーテル麻酔下に手術を行い、動物を非動化し、人工呼吸下で実験を行った。視覚領、側頭領、頭頂領、運動領の皮質表面で焦点発作波を連続電気刺激で誘発して、各々の発作波の持続時間と発作波パターンの変化を DPH 投与の前後で比較した。なお DPH の投与に際しては pharmacokinetics の理論を応用して、必要に応じた DPH 血中濃度の値を一定時間得ることにより行った。

まず予備実験でそれぞれの領野での発作波誘発閾値、発作波持続時間、発作波パターン、くりかえし刺激による発作波延長効果につき比較検討し、視覚領、側頭領、頭頂領、運動領の順位でてんかん原性が強いという結果を得た。続いて DPH の投与により、視覚領、側頭領、頭頂領、運動領の順位に強い発作波持続時間の短縮がみられた。さらに最もてんかん原性の強い視覚領と、最も弱い運動領の発作波につき検討し、それぞれの領野での対照発作波の持続時間が長いほど、DPH の投与による発作波持続時間の短縮が顕著であった。さらに運動領でも短い時間間隔で同一強度の連続刺激をくりかえし、てんかん原性を高め、発作波持続時間のより長い焦点発作波を得た上で、DPH を投与したところ、顕著な発作波持続時間の短縮がみられた。

これらの結果につき考察し、DPH の発作波抑制効果の大脳皮質各領野での差は、各領野間のてんかん原性の差、特に発作波持続時間の長短によると考えられ、てんかん原性と DPH の抑制効果との間には密接な関係があることを示唆した。

稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜りました恩師山口成良教授に心からの謝意を表するとともに、御助言、御指導をいただいた金沢大学医学部神経精神医学教室の地引逸亀博士、並びに協同研究者の広瀬茂宏学士に心から感謝いたします。さらにこの論文は厚生省神経疾患研究委託費「てんかんの成因と治療に関する研究」81-05-11 の援助を受けたことを附記して謝意を表する。

なお本論文の要旨は第 15 回日本てんかん学会 (鹿児島) において発表した。

文 献

- 1) 田代信雄・武市昌士・向野良介・松島道人・荒木隆次: Diphenylhydantoin の抗けいれん作用. 精神医学, 20, 234 - 246 (1978).
- 2) Delgado, J. M. R. & Mihailović, L.: Use of intracerebral electrodes to evaluate drugs that act on the central nervous system. Ann. N. Y. Acad. Sci., 64, 644 - 666 (1956).
- 3) Gangloff, H. & Monnier, M.: The action of anticonvulsant drugs tested by electrical stimulation of the cortex, diencephalon and rhinencephalon in the unanesthetized rabbit. Electroenceph. clin. Neurophysiol., 9, 43 - 58 (1957).
- 4) 岸嘉典: 抗てんかん剤の効果に関する電気生理学的研究: 実験てんかんの研究その 4. 精神神経誌, 62, 1574 - 1588 (1960).
- 5) Aston, R. & Domino, E. F.: Differential effects of phenobarbital, pentobarbital and diphenylhydantoin on motor cortical and reticular thresholds in the rhesus monkey. Psychopharmacologia, 2, 304 - 317 (1961).
- 6) Schallek, W. & Kuehn, A.: Effects of trimethadione, diphenylhydantoin and chlorthalidazine on after - discharges in brain of cat. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 112, 813 - 817 (1963).
- 7) Strobos, R. R. J. & Spudis, E. V.: Effect of anticonvulsant drugs on cortical and subcortical seizure discharges in cats. Arch. Neurol. (Chicago), 2, 399 - 406 (1960).
- 8) Vastola, E. F. & Rosen, A.: Suppression by anticonvulsants of focal electrical seizures in the neocortex. Electroenceph. clin. Neurophysiol., 15, 327 - 332 (1960).
- 9) 山口成良・地引逸竜・倉田孝一・窪田孝: 実験てんかんの研究. 抗てんかん剤の効果に関する電気生理学的研究: 家兎の視覚領発作波に対する diphenylhydantoin 抑制効果についての血中濃度からの検討. 厚生省神経疾患研究委託費, 昭和 54 年度研究報告書, 149 - 156 (1980).
- 10) Toman, J. E. P., Swinyard, E. A. & Goodman, L. S.: Properties of maximal seizures and their alteration by anticonvulsant drugs and other agents. J. Neurophysiol., 9, 231 - 240 (1946).
- 11) Ito, T., Hori, M., Yoshida, K. & Shimizu, M.: Effect of anticonvulsants on cortical focal seizures in cats. Epilepsia, 18, 63 - 71 (1977).
- 12) Toman, J. E. P.: Further observations on diphenylhydantoin, p682 - 688. In H. H. Jasper, A. A. Ward & A. Pope. (ed.), Basic mechanisms of the epilepsies, Little, Brown., Boston, 1969.
- 13) Morrell, F., Bradley, W. & Ptashne, M.: Effects of drugs on discharge characteristics of chronic epileptogenic lesions. Neurology, 9, 492 - 498 (1959).
- 14) Oliver, A. P., Hoffer, B. J. & Wyatt, R. J.: The hippocampal slice: A system for studying the pharmacology of seizures and for screening anticonvulsant drugs. Epilepsia, 18, 543 - 548 (1977).
- 15) Bustamante, L., Lueders, H., Pippenger, C. & Goldensohn, E. S.: The effects of phenytoin on the penicillin - induced spike focus. Electroenceph. clin. Neurophysiol., 48, 90 - 97 (1980).
- 16) Halpern, L. M. & Julien, R. M.: Augmentation of cerebellar Purkinje cell discharge rate after diphenylhydantoin. Epilepsia, 13, 377 - 385 (1972).
- 17) Julien, R. M. & Halpern, L. M.: Effects of diphenylhydantoin and other antiepileptic drugs on epileptiform activity and Purkinje cell discharge rates. Epilepsia, 13, 387 - 400 (1972).
- 18) Laxer, K. D., Robertson, L. T., Julien, R. M. & Dow, R. S.: Phenytoin: Relationship between cerebellar function and epileptic discharges, p415 - 427. In G. H. Glaser, J. K. Perry & D. M. Woodbury (ed.), Antiepileptic drugs: Mechanism of Action. Raven press., New York, 1980.
- 19) Johnson, S. W. & Riker, W. K.: Dose - response analysis of phenytoin on electrically induced seizures and spontaneous activity of cerebellar Purkinje cells in the frog. Epilepsia, 23, 123 - 131 (1982).
- 20) Racine, R., Livingston, K. & Joaquin, A.: Effects of procaine hydrochloride, diazepam and diphenylhydantoin on seizure development in cortical and subcortical structures in rats. Electroenceph. clin. Neurophysiol., 38, 355 - 365 (1975).
- 21) Lockard, J. S., Uhler, V., Ducharme, L. L., Farquhar, J. A. & Huntsman, B. J.: Efficacy of standard anticonvulsants in monkey model with spontaneous motor seizures. Epilepsia, 16, 301 - 317 (1975).
- 22) Wada, J. A., Osawa, T., Sato, M., Wake, A., Corcoran, M. E. & Troupin, A. S.: Acute anticonvulsant effects of diphenylhydantoin, phen-

- obarbital and carbamazepine; A combined electro-clinical and serum level study in amygdaloid kindled cats and baboons. *Epilepsia*, **17**, 77-88 (1976).
- 23) **Rose, M. & Rose, S.**: Die Topographie der Architektonischen Felder der Grosshirnrinde am Kaninchenschädel. *J. Physiol. Neurol.*, **45**, 264-276 (1933).
- 24) **高田寛治・浅田昌三**: 薬物動力学概説: より良き薬物治療のために. 第1版, 東京, 廣川書店, 1978.
- 25) **Jibiki, I., Ohtani, T., Kubota, T. & Yamaguchi, N.**: Development of kindling in acute experiments and serial changes of field excitatory and inhibitory post-synaptic potentials during the acute kindling. *Brain Research.*, **209**, 210-215 (1981).
- 26) **Wallis, W. Kutt, H. & McDowell, F.**: Intravenous diphenylhydantoin in treatment of acute repetitive seizures. *Neurology.*, **18**, 513-525 (1968).
- 27) **Wilder, B. J., Ramsay, R. E., Willmore, L. J., Feussner, G. F., Perchalski, R. J. & Shumate, J. B.**: Efficacy of intravenous phenytoin in the treatment of status epilepticus: Kinetics of central nervous system penetration. *Ann. Neurol.*, **1**, 511-518 (1977).
- 28) **Kutt, H., Louis, S. & McDowell, F.**: Intravenous diphenylhydantoin in experimental seizures. I. Correlation of dose, blood and tissue level in cats. *Arch. Neurol.*, **18**, 465-471 (1968).
- 29) **Louis, S., Kutt, H. & McDowell, F.**: Intravenous diphenylhydantoin in experimental seizures. II. Effect on penicillin-induced seizures in the cat. *Arch. Neurol.*, **18**, 472-477 (1968).
- 30) **Ramsay, R. E., Hammond, E. J., Perchalski, R. J. & Wilder, B. J.**: Brain uptake of phenytoin, phenobarbital and diazepam. *Arch. Neurol.*, **36**, 535-539 (1979).
- 31) **Woodbury, D. M.**: Phenytoin: Absorption, distribution and excretion, p191-207. In D. M. Woodbury, J. K. Penry & C. E. Pippenger. (ed.), *Antiepileptic Drugs*, 2nd ed. Raven Press., New York, 1982.
- 32) **Troupin, A. S. & Friel, P.**: Anticonvulsant level in saliva, serum and cerebrospinal fluid. *Epilepsia*, **16**, 223-227 (1975).
- 33) **Schmidt, D. & Kopfersey, H. J.**: Diphenylhydantoin, phenobarbital and primidone in saliva, plasma and cerebrospinal fluid. *Epilepsia*, **16**, 735-741 (1975).
- 34) **兼子直**: 抗てんかん剤の体内濃度 (第2報) 血清蛋白非結合型, 髄液内, 唾液内濃度について. *精神経誌*, **80**, 29-42 (1978).
- 35) **French, J. D., Gernandt, B. E. & Livingston, R. B.**: Regional differences in seizure susceptibility in monkey cortex. *A. M. A. Arch. Neurol. Psychiat.*, **75**, 260-274 (1956).
- 36) **Racine, R.**: Modification of seizure activity by electrical stimulation: Cortical areas. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, **38**, 1-12 (1975).
- 37) **Penfield, W. & Jasper, H. H.**: Epileptogenic lesions, p281-349. In W. Penfield & H. H. Jasper (ed.), *Epilepsy and the functional anatomy of the human brain*, Little, Brown., Boston, 1954.
- 38) **Fahn, S. & Côté, L. J.**: Regional distribution of γ -aminobutyric acid (GABA) in brain of the rhesus monkey. *J. Neurochem.*, **15**, 209-213 (1968).
- 39) **Perry, T. L. Berry, K., Hansen, S., Diamond, S. & Mok, C.**: Regional distribution of amino acids in human brain obtained at autopsy. *J. Neurochem.*, **18**, 513-519 (1971).
- 40) **Firemark, H., Barlow, C. F. & Roth, L. J.**: The entry, accumulation and binding of diphenylhydantoin-2- C^{14} in brain: Studies on adult, immature and hypercapnic cats. *Int. J. Neuropharmacol.*, **2**, 25-38 (1963).
- 41) **Vernadakis, A. & Woodbury, D. M.**: Effects of diphenylhydantoin and adrenocortical steroids on free glutamic acid, glutamine and gamma-aminobutyric acid concentrations of rat cerebral cortex, p242-248. In E. Roberts (ed.), *Inhibition in the nervous system and γ -aminobutyric acid*, Pergamon, Oxford, 1960.
- 42) **Raabe, W. & Ayala, G. F.**: Diphenylhydantoin increase cortical postsynaptic inhibition. *Brain Res.*, **105**, 594-601 (1976).
- 43) **Ayala, G. F., Johnston, D., Lin, S. & Dichter, H. N.**: The mechanism of action of diphenylhydantoin on invertebrate neurons. II. Effects on synaptic mechanism. *Brain Res.*, **121**, 259-270 (1977).
- 44) **Prince, D. A. & Wilder, B. J.**: Control mechanisms in cortical epileptogenic foci. "Surround" inhibition. *Arch. Neurol.*, **16**, 194-202

(1967).

45) Schmidt, D. & Janz, D.: Therapeutic plasma concentrations of phenytoin and phenobarbitone,

p214 - 225. In C. Gardner - Thorpe, D. Janz, H. Meinarchi, & C. E. Pippenger (ed.), Antiepileptic drug monitoring, Pitman Medical, London, 1977.

Anticonvulsant Effect of Diphenylhydantoin Serum Levels on Focal Seizure Discharges in Different Neocortical Areas in Rabbits: Correlation between Anticonvulsant Effect and Epileptogenicity Takashi Kubota, Department of Neuropsychiatry (Director: Prof. N. Yamaguchi), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920 - J. Jusen Med. Soc., **91**, 939-951 (1982)

Key words: Diphenylhydantoin, Epileptogenicity, Serum level, Focal seizure discharge, Neocortical area, Pharmacokinetics.

Abstract

Acute experiments were conducted on 32 adult male rabbits weighing from 2.5 to 3.5 kg, in order to correlate the anticonvulsant effect of diphenylhydantoin(DPH) with epileptogenicity in different neocortical areas. Surgical operations were carried out under ether anesthesia. The rabbits were immobilized and artificially ventilated throughout the experiment. The discharge duration and pattern were compared among focal seizure discharges induced electrically in the unilateral visual, temporal, parietal and motor cortices before and after intravenous injection of DPH. The serum level of DPH was measured by gaschromatography after cessation of each seizure discharge. Two or three trials of experiment per rabbit were carried out at different serum levels, each of which was maintained steadily on the basis of pharmacokinetics. The durations of focal seizure discharge were markedly shortened by DPH(5-15 μ g/ml serum) in the order of those induced in the visual, temporal, parietal and motor cortices. Two additional series of experiments were carried out. In one series concerning the regional variation of epileptogenicity, the threshold, duration and pattern were compared among seizure discharges induced in the different cortices. It was found that the threshold was lower, the duration was longer and the tonic phase was more prominent in the order of seizure discharges induced in the visual, temporal, parietal and motor cortices. In the other series of experiments, seizure-producible electric stimulation was repeated at short intervals in the motor cortex to provoke an acute kindling, in which the duration of focal seizure discharge was longer and the tonic phase was more prominent than those in the normal motor cortex. The focal seizure discharges thus developed in the motor cortex were shortened conspicuously by administration of DPH to the same degree as those induced in the normal visual cortex were prevented. The present results suggest that the anticonvulsant effect of DPH is different on the individual neocortical areas examined and is greater in the regions having higher epileptogenicity.